

## 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 姜 艶

主論文 1 編

Pacing-induced non-uniform  $\text{Ca}^{2+}$  dynamics in rat atria revealed by rapid-scanning confocal microscopy.  
Acta Histochemica et Cytochemica (掲載予定)

## 審査結果の要旨

近年、心臓の興奮・収縮において中心的役割を演じるカルシウムイオン（以下  $\text{Ca}^{2+}$ ）の細胞内動態が可視化できるようになり、心筋の生理・病理研究は著しい発展を遂げた。しかしながら心臓のリザーバとして機能する心房の  $\text{Ca}^{2+}$  動態研究は単離細胞を対象としたものに留まり、心臓内で機能している心房筋細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  動態はほとんど明らかにされていない。

申請者は、*in situ* 共焦点レーザー顕微鏡を用いて心房の細胞レベルでの  $\text{Ca}^{2+}$  動態の可視化を試み、その特性を解析した。 $\text{Ca}^{2+}$  蛍光指示薬 fluo4-AM を負荷した成獣 Wistar ラット心臓を標準 Tyrode 液でランゲンドルフ灌流（25℃）し、1 - 4 Hz の電氣的駆動下の左右心耳にカバーガラスを置き、ニポウ式共焦点スキャナを用いてその蛍光シグナルを CCD カメラで取得（30 ミリ秒毎）した。また di-4-ANEPPS の共焦点レーザー顕微鏡画像から心筋の形態を評価した。

心房筋と心室筋の形態・構造を比較すると、心室筋には細胞質内に横行管（T 管）が密に分布していたのに対し、心房筋には T 管は殆ど認めなかった。16 例の心房を用いて fluo4 の蛍光強度変化を高速共焦点観察すると、5 例では個々の心房筋細胞が電氣的興奮に伴って均一な蛍光強度の一過性上昇（ $\text{Ca}^{2+}$  トランジェント）を示し、その持続時間は興奮頻度依存性に短縮、振幅は各頻度の興奮で概ね一定していたが、4Hz の高頻度刺激では一拍毎に軽度の増減を示すオルタナンス現象が観察された。これに対し、残り 11 例の心房では個々の心房筋細胞で  $\text{Ca}^{2+}$  動態が不均一化し、電氣的興奮に伴って細胞内局所に生じる巣状の一過性  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇や高  $\text{Ca}^{2+}$  濃度領域の細胞内波状伝播（ $\text{Ca}^{2+}$  波）が観察された。 $\text{Ca}^{2+}$  動態の不均一性は細胞間にも認められ、3 - 4 Hz の高頻度刺激では高度の  $\text{Ca}^{2+}$  オルタナンスを認めるなど、刺激頻度の上昇に伴い顕著になった。心房を高頻度駆動（5Hz）することにより細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  負荷を試みたところ、駆動停止後には  $\text{Ca}^{2+}$  波など異常な  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇は殆ど認めなかった。本研究により、生きた丸ごとの心臓において心房筋細胞が興奮頻度に依存して空間的に不均一な  $\text{Ca}^{2+}$  動態を示すことが明らかになった。刺激頻度にもなった  $\text{Ca}^{2+}$  動態の不均一性は、興奮に伴う  $\text{Ca}^{2+}$  貯蔵量の累積的な低下や筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  放出チャネルであるリアノジン受容体の不応性が関わっているものと推測されるが、心房筋の未発達な T 管も  $\text{Ca}^{2+}$  動態不均一化の一因と考えられる。

以上が本論文の要旨であるが、機能している心臓で観察された心筋  $\text{Ca}^{2+}$  動態の不均一性は、心房性不整脈や不全心の病態を考える上で重要な知見であり、医学上価値ある研究と認める。

平成 26 年 4 月 17 日

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 夜 久 均 ㊞

審査委員 教授 濱 岡 建 城 ㊞